

CARACTERIZAÇÃO DE PATÓTIPOS DE *COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM* QUE OCORREM EM ALGUMAS REGIÕES PRODUTORAS DE FEIJOEIRO COMUM

C.A. RAVA*, A.F. PURCHIO** & A. SARTORATO*

EMBRAPA/CNPAF, Caixa Postal 179, 74001-970, Goiânia/GO.

(Aceito para publicação em 22/04/94)

RAVA, C.A., PURCHIO, A.F. & SARTORATO, A.S. Caracterização de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. Fitopatol. bras. 19: 167-172. 1994.

RESUMO

A antracnose do feijoeiro comum incitada por *Colletotrichum lindemuthianum* apresenta ampla distribuição no Brasil, especialmente nas regiões sul e sudeste e em áreas serranas onde as temperaturas moderadas favorecem o seu desenvolvimento. No presente estudo foram testados 118 isolados e determinados 25 patótipos pertencentes aos grupos Alfa, Delta, Gama, Mexicano I, Mexicano II e Brasileiro I. O grupo Alfa apresentou a maior frequência de isolados (53,39%) e, dentro dele, os isolados compatíveis com o gene de resistência ARE (patótipos 73, 89 e 585) representaram 68,25% do grupo e 36,44% do número total de isolamentos. A seguir, apresentou-se o grupo Delta com 27,97% do total dos isolados testados, sendo que apenas 3,39% (patótipos 79 e 95) apresentou reação compatível

com o gene ARE. Os patótipos 453 (Brasileiro I), 343 (Delta) e 339 (Mexicano II) induziram reação de compatibilidade com a cultivar TO (gene Mex. 2), enquanto que o patótipo 585 (Alfa) apresentou reação de compatibilidade com a cultivar TU (gene Mex. 3). Os patótipos 65 e 87 apresentaram a maior distribuição geográfica, enquanto que os Estados do Espírito Santo, Paraná, Goiás e Bahia, os maiores números de patótipos. A identificação de patótipos que induziram reações compatíveis com as cultivares TO e TU reveste-se da maior importância, já que os genes de resistência Mex. 2 e Mex. 3 têm sido amplamente utilizados como fontes de resistência na maioria dos programas de melhoramento no país.

Palavras chave: *Phaseolus vulgaris*, fungo, antracnose, variabilidade patogênica, resistência.

ABSTRACT

Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* pathotypes occurring in some dry bean production areas

The anthracnose of dry beans, incited by *Colletotrichum lindemuthianum* is widely distributed in Brazil. It has been considered important in the South and Southeast regions and in the high altitudes in which moderate temperatures favor its development. In the present study, 25 pathotypes belonging to Alfa, Delta,

Gamma, Mexicano I, Mexicano II and Brasileiro I groups were identified out of 118 isolates tested. Isolates in the Alfa group showed the highest frequency (53.39%) among all identified groups and, within this group, isolates compatible with the resistance gene ARE (pathotypes 73, 89, 585) represented 68.25% of the group and 36.44% of the total number of the isolates tested. It was followed by the Delta group with the frequency of 27.97% among all tested isolates from which only 3.39% (pathotypes 79 and

* Bolsista do CNPq;
** Bolsista DCR/CNPq.

95) had a compatible reaction with the ARE gene. Among all isolates tested, pathotypes 453, 343 and 359, belonging to groups Brasileiro I, Delta and Mexican I, respectively, induced a compatible reaction with the cultivar TO (gene Mex. 2), whereas the pathotype 585 (Alfa) exhibited a compatible reaction with the cultivar TU (gene Mex. 3). Pathotypes 65 and 87 showed the widest geographic

distribution. The States of Espírito Santo, Paraná, Goiás and Bahia, sustained the highest number of pathotypes. The identification of pathotypes that induced compatible reaction with TO and TU cultivars are of great importance since the resistance genes Mex. 2 and Mex. 3 have been intensively employed as source of resistance for anthracnose in most breeding programs in Brazil.

INTRODUÇÃO

A antracnose do feijoeiro comum, incitada por *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. é uma das limitantes mais importantes para a produção desta leguminosa no Brasil. Prevalece nas principais zonas produtoras, especialmente nas regiões sul e sudeste, assim como em áreas serranas, onde as temperaturas moderadas favorecem o seu desenvolvimento. A transmissão do patógeno através de sementes infectadas é altamente eficiente para sua disseminação, possibilitando o intercâmbio de diferentes patótipos entre as diversas regiões produtoras.

O emprego da resistência genética tem merecido especial destaque dentro de um sistema integrado de controle visando a redução das perdas ocasionadas pela doença. Entretanto, a capacidade de variação patogênica do fungo tem dificultado este trabalho, tornando imperativo manter atualizado seu conhecimento para, mediante a exploração da variabilidade existente no feijoeiro comum, lograr o desenvolvimento de novas cultivares resistentes.

O primeiro trabalho de identificação de raças fisiológicas de *C. lindemuthianum*, no Brasil, foi realizado por Kimati (1966), que identificou duas raças pertencentes aos grupos Alfa e Delta; entretanto, a variação da reação na cultivar Dark Red Kidney, em função de sua origem, não lhe permitiu discernir entre a raça Delta e uma raça de um novo grupo, o qual foi, posteriormente, denominado de Brasileiro I, nem confirmar o grupo Mexicano II. Augustin & Costa (1971) determinaram a presença dos grupos Alfa e Beta, aos quais, posteriormente, Oliveira *et al.* (1973) adicionaram os grupos Gama, Mexicano I e uma nova entidade que denominaram grupo Brasileiro I.

Oliari *et al.* (1973) reportaram os grupos Mexicano II, Alfa e Brasileiro I, os quais foram subdivididos com o emprego de cultivares diferenciadoras suplementares. Estes autores descreveram um novo grupo, denominado de Brasileiro II que, de acordo com a reação das diferenciadoras, corresponde ao grupo Alfa. Pio-Ribeiro & Chaves (1975) relataram a ocorrência dos grupos Delta e Mexicano I.

O primeiro patótipo capaz de "quebrar" a resistência do gene ARE da cultivar Cornell 49-242 foi identificado na França por Fouilloux (1976), correspondendo a um isolamento da raça Alfa remetido do Brasil pela Dra. Eliane Oliveira, o qual, por esse motivo, foi denominado Alfa-Brasil. Menezes *et al.* (1982) e Menezes & Dianese (1988) relataram a ocorrência das raças Alfa, Epsilon e Eta pertencentes ao grupo Alfa; Delta, Mu, Teta, Lambda e Capa pertencentes ao grupo Delta; e a raça Zeta

pertencente ao grupo Brasileiro I, porém com a capacidade de induzir reação de compatibilidade com a cultivar TO. A ocorrência de uma nova raça denominada Sigma foi relatada por Dudienas & Pompeu (1985); porém, a reação nas cultivares diferenciadoras corresponde a raça Alfa-Brasil, a qual já tinha sido descrita.

O objetivo do presente experimento foi estudar a variabilidade de *C. lindemuthianum* a partir de isolados oriundos de diversas regiões produtoras do feijoeiro comum.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão-EMBRAPA, localizado no município de Goianira, Goiás, entre junho de 1989 e janeiro de 1993.

O isolamento do fungo foi realizado em meio de BDA + antibiótico (batata-dextrose-agar + Tetraciclina 250 ppm) mediante o plaqueamento da suspensão, em água estéril, dos esporos obtidos de lesões individuais de vagens infectadas. Os isolados foram mantidos pelo método de Castellani (Figueiredo, 1967) a 4°C, em refrigerador.

O conjunto de cultivares diferenciadoras utilizado foi o aprovado no "Taller Internacional de Antracnosis" (Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1990), o qual é apresentado na Tabela 1. Grupos de seis cultivares diferenciadoras mais a testemunha suscetível IPA 74-19 foram semeados em bandejas de plástico de 50x40x8cm, utilizando-se dez sementes de cada cultivar.

A produção de inóculo foi realizada em vagens esterilizadas, parcialmente imersas em BDA (Pio-Ribeiro & Chaves, 1975), as quais foram incubadas a 22°C, no escuro, durante 8-10 dias. A partir dessas culturas, foi preparada uma suspensão de 1.2×10^6 conídios por ml, à qual foi adicionado 0,03% de espalhante (Tween 80).

As inoculações foram realizadas 10 dias após a semeadura, aplicando as suspensões de inóculo com De Vilbiss, acionado por um compressor, depositando o inóculo em ambas as faces das folhas e nos talos das plantas. A seguir, as plantas foram incubadas em câmara-de-nevoeiro, a 22-23°C, durante 2 dias, sendo posteriormente transferidas para uma câmara com condições controladas, a 22-23°C, com 12 horas de luz. As inoculações foram repetidas sempre que necessário, até conseguir completa segurança dos resultados obtidos.

A avaliação dos sintomas foi realizada 8-10 dias após a inoculação, em um total de 7 a 10 plantas de cada cultivar, utilizando-se a escala de 9 graus descrita por Rava *et al.* (1993). Foram consideradas resistentes (reação

incompatível) as plantas que apresentaram graus de 1 a 3 e suscetíveis (reação compatível) aquelas com graus de 4 a 9.

O critério adotado para a nomenclatura dos patótipos foi o sistema binário proposto por Habgood (1970), aprovado no "Taller Internacional de Antracnosis" (Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1990) descrito por Rava *et al.* 1993. Também foram utilizados os critérios de nomenclatura utilizados por outros autores para, quando possível, realizar as comparações dos resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram determinados 25 patótipos de *C. lindemuthianum*, cujas reações nas cultivares diferenciadoras encontram-se na Tabela 1, onde pode-se observar a alta frequência de patótipos que induzem

reações compatíveis com a cultivar México 222 possuidora do gene Mex. 1 a. Segundo Fouilloux (1976), esse gene confere resistência a várias raças, incluindo algumas altamente virulentas, como a Capa. Em trabalho anterior (Menezes & Dianese, 1988), a cultivar México 222 foi suscetível a apenas 8,96% dos 201 isolados testados, enquanto que, neste estudo, ela apresentou-se suscetível a 94,07%, indicando uma evolução na população do patógeno em direção à compatibilidade com o gene Mex. 1 a.

A identificação do patótipo 585 (Tabela 1) proveniente do Espírito Santo com capacidade de induzir reação compatível com o gene Mex. 3 da cultivar TU, reveste-se da maior importância, já que a referida cultivar tem sido amplamente utilizada como fonte de resistência na maioria dos programas de melhoramento no país, tornando imperativa a revisão imediata deles. Patótipos virulentos à

TABELA 1. Reação das cultivares diferenciadoras inoculadas com os patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* definidos segundo o sistema binário de classificação.

PATÓTIPO	NÚMERO DE ORDEM DAS CULTIVARES DIFERENCIADORAS ¹											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
7	+ ²	+	+	- ³	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
23	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
55	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
64	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
65	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
67	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
72	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
73	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
75	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
79	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
81	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
83	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
87	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
89	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
95	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
97	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
101	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
102	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
117	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
119	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
339	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-
343	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-
453	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
585	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-

¹ (1) Michelite; (2) Dark Red Kidney; (3) Perry Marrow; (4) Cornell 49-242; (5) Widusa; (6) Kaboon; (7) México 222; (8) PI 207.262 (Tlalnepantla 64); (9) TO; (10) TU; (11) AB 136; (12) G 2333 (Colorado de Teopisca).

² Reação compatível (+)

³ Reação incompatível (-)

cultivar TU foram relatados no México (Bolaños, 1984) e na Nicarágua (Rava *et al.*, 1993), onde representaram 13,33 e 100,00% dos isolados testados, respectivamente.

A existência de patótipos virulentos às cultivares TU e AB 136, somada à resistência da cultivar Dark Red Kidney a todos os isolados testados no México (Bolaños, 1984) e na Nicarágua (Rava *et al.*, 1993), levaram, estes últimos autores, a sugerir que, no México e na América Central, a evolução da população do patógeno tem sido diferente à operada na Europa, América do Norte e do Sul. Porém, o emprego cada vez mais extensivo de novas fontes de resistência tem favorecido a evolução do patógeno, mudando a situação antes descrita.

A comparação dos patótipos definidos segundo o sistema binário com as raças fisiológicas e grupos do

sistema clássico de nomenclatura, é apresentada na Tabela 2, especificando-se, quando necessário, a(s) cultivar(es) e a reação que difere da descrição original da raça fisiológica. Foram identificados patótipos em seis dos oito grupos possíveis de serem definidos com base em duas classes de reação (compatível e incompatível) e três cultivares diferenciadoras (Michelite, Dark Red Kidney e Perry Marrow).

O grupo Alfa apresentou a maior frequência de isolados (53,39%) e, dentro dele, os isolados compatíveis com o gene de resistência ARE (patótipos 89,73 e 585) representaram 68,25% do grupo e 36,44% do total de isolamentos. Também neste caso pode-se constatar uma evolução para maior virulência da população do patógeno, partindo da total ausência de patótipos do grupo alfa

TABELA 2. Comparação dos patótipos definidos segundo o sistema de classificação com as raças fisiológicas e grupos do sistema clássico de nomenclatura.

GRUPO	RAÇA FISIOLÓGICA	PATÓTIPO	Nº DE ISOLADOS	SUB-TOTAIS
ALFA	Alfa-Brasil	89	7	
	Alfa-Brasil (Wid.R ¹)	73	35	
	Alfa-Brasil (Wid.R; TU S ²)	585	1	
	Epsilon (M.222 S ³)	65	16	
	Epsilon (Kab. S ⁴ ; M.222 S)	97	1	
	Eta	81	3	63
GAMA	Gama	102	1	1
DELTA	Delta	23	3	
	Delta (Wid.R)	7	1	
	Lambda	55	2	
	Lambda (M.222 S)	119	9	
	Capa (Wid.R; M.222 S)	79	1	
	Capa (M.222 S)	95	3	
	Mu	87	13	
	Mu (TO S ⁵)	343	1	33
MEXICANO I	Mex. I (Corn. S ⁶)	8	1	
	Mex. I (M. 222S)	64	9	
	Mex. I (Corn. S; M.222S)	72	1	11
MEXICANO II	Mex. II	67	1	
	Mex. II (Corn. S)	75	1	
	Mex. II (Wid. S)	83	1	
	Mex. II (TO S)	339	2	5
BRASILEIRO I	Bras. I	101	1	
	Bras. I	117	2	
	Zeta (Wid. R; M.222 S)	453	2	5
TOTAL GERAL				118

¹ Widusa resistente

² TU suscetível

³ México 222 suscetível

⁴ Kaboon suscetível

⁵ TO suscetível

⁶ Cornell 49-242 suscetível

compatíveis com o gene ARE no levantamento realizado por Menezes & Dianese (1988), chegando a representar 79,41% dos 34 isolados testados no Estado de Santa Catarina (Balardin *et al.*, 1990).

O grupo Delta foi o segundo, quanto à frequência, com 27,97% do total dos isolados testados, dos quais apenas 3,39% apresentou reação compatível com a cultivar Cornell 49-242 (patótipos 79 e 95), representando um pequeno incremento com relação aos 1,49% obtidos por Menezes & Dianese (1988), e sendo próximo aos 5,88% determinado por Balardin *et al.* (1990).

Até o presente, a raça Zeta era a única capaz de induzir reação de compatibilidade com o gene Mex. 2 da cultivar TO (Menezes & Dianese, 1988). Neste estudo,

além de dois isolados pertencentes ao grupo Brasileiro I (patótipo 453) foram determinados também patótipos pertencentes aos grupos Mexicano II (patótipo 339) e Delta (patótipo 343), que induziram reação de compatibilidade com a cultivar TO.

A distribuição geográfica dos patótipos identificados com as respectivas frequências de isolamentos encontra-se detalhada na Tabela 3. Apesar de terem sido incluídos 35 isolados do Estado de Goiás, os sete patótipos identificados representaram apenas 25,71% desse total. Maior variabilidade foi constatada nos Estados do Espírito Santo, Paraná e Bahia, que, com nove, oito e seis patótipos em 28, 14 e 13 isolados estudados, representaram 32,14, 57,14 e 46,15% desses totais, respectivamente. Apesar de terem

TABELA 3. Distribuição dos isolados e dos patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* identificados no período de 1989-92.

PATÓTIPOS	UNIDADES DA FEDERAÇÃO												
	BA	DF	ES	GO	MG	MS	PB	PE	PR	RJ	RS	SC	SE
	(Número de Isolados)												
7								1					
8				1									
23	1			1				1					
55									1			1	
64			6						1		2		
65	5		4	2			1		4				
67			1										
72			1										
73		2	11	21						1			
75			1										
79			1										
81	1							1	1				
83				1									
87	3	1	2	3			1	3					
89					1	3			2				1
95									3				
97				1									
101	1												
102									1				
117				2									
119	2			3	3			1					
339						2							
343						1							
453									1		1		
585			1										
Total de Isolados	13	3	28	35	4	6	2	7	14	1	3	1	1

sido estudados poucos isolados provenientes de Pernambuco (7) e Mato Grosso do Sul (6), as frequências relativas dos patótipos de 71,34% e 50,00%, respectivamente, indicam a possibilidade de se encontrar uma variabilidade bem ampla com amostragens maiores.

Com referência à virulência dos isolados em cultivares utilizadas como fontes de resistência, cabe destacar que no Espírito Santo quinze isolados induziram reação compatível com 'Cornell 49-242' e um com 'TU'; no Estado do Mato Grosso do Sul, três isolados foram compatíveis com 'Cornell 49-242' e três com 'TO' e, no Estado do Paraná, cinco isolados foram compatíveis com 'Cornell 49-242' e um com 'TO'. Finalmente, no Estado de Goiás e no Distrito Federal, 22 e 2 isolados, respectivamente, induziram reação compatível com 'Cornell 49-242'. Este fato, consequência da ampla utilização das cultivares Cornell 49-242, TO e TU como fontes de resistência na genealogia das cultivares atualmente em uso, parece indicar a necessidade de substituí-las ou complementar a resistência conferida pelos genes ARE, Mex. 2 e Mex. 3, respectivamente.

Os patótipos 65 e 87 foram os que apresentaram maior distribuição geográfica, e foram encontrados em cinco e seis Unidades da Federação, respectivamente (Tabela 3).

Ao se comparar os resultados deste estudo com os que lhe precederam, as mudanças em patogenicidade na população de *Colletotrichum lindemuthianum* nesse período, assim como a constatação de novos patótipos com a capacidade de "quebrar" a resistência de cultivares amplamente utilizadas nos programas de melhoramento, justificam a necessidade do monitoramento constante da variabilidade do patógeno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUGUSTIN, E. & COSTA, J.G.C. da. Fontes de resistência a duas raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. no melhoramento do feijoeiro no Sul do Brasil. *Pesq. agropec. bras.* 6:265-272. 1971.
- BALARDIN, R.S.; PASTOR-CORRALES, M.A. & OTOYA, M.M. Variabilidade patogênica de *Colletotrichum lindemuthianum* no Estado de Santa Catarina. *Fitopatol. bras.* 15:243-245. 1990.
- BOLAÑOS, J.I. Variación patogénica de aislamientos Mexicanos de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib., agente causal de la antracnosis del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Palmira, Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 1984. 70p. (Tesis de grado).
- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Informe Anual 1988. Programa de Frijol. Cali, 1990. p. 128-129. (CIAT. Documento de Trabajo, 72).
- DUDIENAS, C. & POMPEU, A.S. Nova raça fisiológica de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. no Estado de São Paulo. In: Seminário sobre pragas e doenças do feijoeiro, 2., Campinas, 1985. Resumos. Campinas, IAC, 1985.
- FIGUEIREDO, M.B. Estudos sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patógenos em plantas. *O Biológico* 33:9. 1967.
- FOUILLOUX, G. L'anthracnose du haricot (*Colletotrichum lindemuthianum* Sacc. et Magn.): Nouvelles sources de résistance et nouvelles races physiologiques. *Ann. Amélior. Plantes* 26:443-453. 1976.
- HABGOOD, H. Designation of physiological races of plant pathogens. *Nature* 227:1268-1269. 1970.
- KIMATI, H. Algumas raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib., 1988, que ocorrem no Estado de São Paulo. Piracicaba, ESALQ/USP, 1966. 28p. (Tese de Mestrado).
- MENEZES, J.R. de; MOHAN, S.K. & BIANCHINI, A. Identificação de raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. no Estado do Paraná. In: Reunião Nacional de Pesquisa de Feijão, 1., Goiânia, 1982. *Anais. Goiânia, EMBRAPA-CNPAP*, 1982. p. 297-298. (EMBRAPA-CNPAP. Documentos, 1).
- MENEZES, J.R. de & DIANESE, J.C. Race characterization of Brazilian isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* and detection of resistance to anthracnose in *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathology* 78:650-655. 1988.
- OLIARI, L.; VIEIRA, C. & WILKINSON, R.E. Physiologic races of *Colletotrichum lindemuthianum* in the State of Minas Gerais, Brazil. *Plant Dis. Repr.* 57:870-872. 1973.
- OLIVEIRA, E.A.; ANTUNES, I.F. & COSTA, J.G.C. da. Variação em patogenicidade do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. no Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Pelotas, IPEAS. 1973. 5p.
- PIO-RIBEIRO, G. & CHAVES, G.M. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib. que ocorrem em alguns municípios de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro. *Experientia* 19:95-118. 1975.
- RAVA, C.A.; MOLINA, J.; KAUFFMANN, M. & BRIONES, I. Determinación de razas fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* en Nicaragua. *Fitopatol. bras.* 18:388-391. 1993.